

Papiloma del virus humano de alto riesgo en cáncer de esófago escamoso: estudio clínico patológico retrospectivo durante el periodo 2003-2006 en el Hospital Edgardo Rebagliati Martins, EsSalud, Lima, Perú.

High-risk human papilloma virus in squamous cell esophageal cancer: a retrospective clinicopathological study from 2003 to 2006 in Edgardo Rebagliati-Martins Hospital, EsSalud, Lima, Peru.

Brady Beltran Gárate¹, Manuel Huamán Guerrero², Fernando Osoreo Plenge³, Américo Palomino Portilla⁴, Alejandro Yabar Berrocal⁵, Esther Cotrina Montenegro⁶, Alí Gallo López⁷, Marco Lopez-Hilasaca⁷

RESUMEN

Introducción: El virus del papiloma humano (VPH) es un agente involucrado en la patogénesis del cáncer de cérvix. Varios reportes describen una asociación entre VPH y carcinoma escamoso de esófago (CEE).

Objetivo: determinar la frecuencia de infección del PVH de alto riesgo y el CEE.

Material y método: se realizó un estudio retrospectivo del universo de caso, n= 29 de CEE diagnosticados del 2003 al 2006 con estudio anatomopatológico en el Hospital Edgardo Rebagliati Martins, Lima, Perú. La muestras parafinadas fueron sometidas a PCR-RT para la detección de PVH 16,18,31,33 y 45 .

Resultados: la edad media fue de 73 años, la relación masculino/femenino fue 3. Los estadios fueron : estadio I :1 caso; estadio II: 12 casos, estadio III:14 casos y estadio IV: 2 casos. No se detectó en ningún caso VPH de alto riesgo a pesar de emplear dos sondas diferentes.

Conclusión: el VPH no fue detectado en CEE en el universo de casos estudiados.

Palabras clave: carcinoma escamoso de esófago, papiloma del virus humano, alto riesgo.

ABSTRACT

Introduction: Human papilloma virus (HPV) is an agent involved in the pathophysiology of cervical cancer. Many reports describe an association between HPV and esophageal squamous-cell carcinoma (ESCC).

Objective: The main objective of the study is to determine the frequency of high-risk HPV infection and ESCC.

Material and method: A retrospective study including 29 ESCC cases with a histological and pathological diagnosis from 2003 to 2006 in Edgardo Rebagliati-Martins Hospital in Lima, Peru. Paraffin-embedded tissue fragments underwent RT-PCR tests for detecting HPV types 16, 18, 31, 33, and 45.

Results: Mean age of patients was 73 years, male to female ratio was 3. Stage I disease was found in one case; stage II disease in 12 cases, stage III disease in 14 cases, and stage IV in 2. No high-risk HPV was found in any of the samples studied, even though we used two different probes.

Conclusion: HPV was not detected in ESCC in the population studied.

Keywords: esophageal squamous cell cancer, human papilloma virus, high risk.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de esófago (CE) es una neoplasia asociada al tabaquismo y alcoholismo¹.

Existe evidencia de la presencia del VPH de alto riesgo en CEE tanto en series latinoamericanas y mundiales. Sin embargo la asociación con el PVH es aún controversial^{2,3}.

Incluso existen reportes sobre el valor predictivo y pronóstico de VPH en cánceres de cabeza y cuello^{5,6}. No obstante, no existen estudios nacionales sobre la presencia del VPH en CE.

Ante la importancia de la infección del VPH en cáncer, la disponibilidad de una vacuna contra el virus y la carencia de información nacional, es que se plantea la realización de un estudio de casos para establecer la presencia del VPH de alto riesgo en CEE.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio fue retrospectivo y descriptivo. En el estudio se seleccionaron 29 muestras de biopsias parafinadas provenientes de pacientes con diagnóstico histopatológico de CEE. Las muestras seleccionadas fueron de los años 2003 al 2006 del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Edgardo Rebagliati Martins.

Se evaluarán las historias clínicas de los 29 pacientes para establecer las características clínicas, esta información se registró en una ficha de datos. Los criterios de inclusión fueron: diagnóstico de enfermedad entre los años 2003 – 2006, diagnóstico anatomopatológico de CEE, historia clínica completa y tacos de parafina en buen estado de conservación. Los criterios de exclusión fueron: infección por HIV y trasplante de órgano sólido o hematológico.

Para la determinación de la presencia del VPH y sus subtipos en las muestras de parafina se empleó una prueba molecular denominada reacción de cadena de polimerasa

1. Médico Oncólogo, Departamento de Oncología Médica-Radioterapia Hospital Edgardo Rebagliati Martins, Lima, Perú
2. Médico Cirujano. Servicio de Cirugía General C, Hospital Edgardo Rebagliati Martins, Decano de la Facultad de Medicina Humana y Director del Instituto de Investigaciones Biomédicas INICIB de la Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.
3. Médico Investigador. Infectólogo Tropicalista Magister. Profesor de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú. Coordinador del Instituto de Investigaciones en Ciencias Biomédicas INICIB- FAMURP, Lima, Perú,
4. Anatomopatólogo, Departamento de Anatomía Patológica Hospital Edgardo Rebagliati Martins, Profesor de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Ricardo Palma, Lima Perú
5. Enfermera asistente, Departamento de Enfermería, Hospital Edgardo Rebagliati Martins. Lima, Perú
6. Médico investigador del Centro Peruano de Diagnóstico Molecular.

a tiempo real (PCR-RT) que de acuerdo a un protocolo de trabajo permitió evaluar la presencia del virus en la muestras de parafina además de tipificar los subtipos de alto riesgo (16,18,31,45). El aislamiento del DNA de las muestras parafinadas se realizaron con el kit DNeasy Blood&Tissue Kit con número de catálogo 69504 marca QIAGEN y se utilizaron para la extracción, columnas de purificación de DNA. La calidad y cantidad del DNA extraído fueron evaluadas por espectrofotometría. Para la ejecución de las muestras se emplearon los *primers Forward and Reverse de InvitroGen* además de Sondas TAQMAN de *Biosearch Technologies C.A* específicas para los subtipos 16, 18, 31 y 45 de PVH. Para el control interno se usó actina.

Resultados

De los 29 pacientes evaluados, 22 fueron varones y 7 mujeres.

La media de edad fue 73 años, con rango de 42-91.

Los estadios clínicos fueron predominantemente avanzados: estadio I, 1 caso; estadio II, 12 casos; estadio III, 14 casos y estadio IV en 2 casos. Recibieron sólo tratamiento de soporte 3 pacientes, sólo radioterapia 9 pacientes; quimioradioterapia 10 pacientes de los cuales 2 accedieron luego a cirugía, sólo cirugía en 5 casos y sólo cirugía y radioterapia en 2 casos.

Ningún caso dio positividad a PCR-RT a pesar de emplear dos tipos de sondas diferentes.

DISCUSIÓN

El cáncer de esófago (CE) es una neoplasia clásicamente asociada al tabaquismo y alcoholismo¹. La asociación con el PVH es aún controversial^{2,3}.

El primer reporte sobre la asociación del PVH y CE la hizo en 1988, el Dr Syrjanen⁴. El PVH es un virus DNA epiteliotrópico cuyo ciclo de vida está inseparablemente ligado al proceso de diferenciación del epitelio pluriestratificado de la piel y membranas mucosas. Las infecciones por PVH pueden ser asintomáticas y producir proliferaciones benignas o estar asociadas con neoplasias malignas o premalignas. La asociación del PVH subtipos 16, 18 31, 33, y 45 con carcinogénesis anogenital esta bien establecida en 90-100% de los cánceres cervicales de cuello uterino⁵. Su relación con cáncer de pulmón, canal anal y cánceres de cabeza y cuello esta aún bajo intensa investigación (6-8). El subtipo 16 es el más frecuentemente detectado en cánceres de cabeza y cuello⁹.

Oncoproteínas virales del PVH como E6 y E7 interactúan con la proteínas regulatorias del crecimiento del huésped permitiendo una pérdida del control del ciclo celular, pérdida de la apoptosis e inestabilidad cromosómica^{10,11}.

El mecanismo de carcinogénesis del PVH involucra la inactivación de la proteína del gen supresor tumoral Rb (pRb) por los productos E7 del virus como también la proteína E7 del PVH-16 correlaciona con reducidos niveles de pRB en biopsias cervicales¹².

Los genes E6/E7 del PVH de alto riesgo pueden causar immortalización en células epiteliales esofágicas fetales en líneas celulares como también en queratinocitos esofágicos humanos de cultivos primarios^{13,14}. La proteína E6 del PVH se enlaza al p53 in vivo inhibiendo la represión de la transcripción dependiente de éste¹⁵.

El PVH está implicado con el CE en áreas de alto riesgo como China, Irán y Africa. El DNA del PVH 16 fue el más identificado en China¹⁶. En contraste, estudios usando similares métodos en Estados Unidos, Holanda, Hong Kong, Italia, Francia y Reino Unido detectaron una baja prevalencia de infección. Lo que sugiere que el rol del PVH en la carcinogénesis esofágica puede ser más pronunciada en áreas del mundo con una alta prevalencia de CE¹⁶. Un reporte chino detectó en tejido normal, paranormal y en tejido tumoral de CE, la presencia del PVH; sin embargo la presencia de los subtipos de alto riesgo 16 y 18 fueron estadísticamente más prevalentes en la muestras de tejido tumoral¹⁷.

Castillo et al. determinó en el único estudio latinoamericano de PVH y CEE, la presencia del virus en el 29% de las 73 muestras evaluadas. Los casos evaluados fueron muestras de pacientes chilenos y colombianos. Los casos evaluados presentaron los subtipos 16 y 18 (subtipo 16 en las muestras de Chile y subtipo 18 en las muestras de Colombia)¹⁸.

El valor pronóstico del PVH en pacientes con CE ha sido evaluado por varios autores¹⁹⁻²¹. Furihata et al. demostró que los pacientes PVH positivos tienen peor pronóstico que los PVH negativos²⁰. Sin embargo Hippelainen et al. no confirmó estos hallazgos¹⁹. Otro estudio no detectó diferencia en sobrevida cuando se correlacionaba la carga viral del PVH 16 (21).

Recientemente un nuevo estudio determinó una relación entre el status PVH y la sobreexpresión de p53 y p73 en CE, lo que plantea mecanismos compartidos en la carcinogénesis del CE²². Incluso en cáncer de orofaringe se plantea que los PVH positivos presentarían mejor pronóstico que los PVH (-)²³. Recientemente fue detectada la relación entre PVH y el subtipo adenocarcinoma de cáncer de pulmón en la población china²⁴.

A pesar de un estudio previo que demostró la presencia del PVH 16 en un CEE en un post-trasplantado renal peruano²⁵, en el presente trabajo no se detectó al virus en ninguno de los 29 pacientes a pesar de emplear dos tipos de sondas para su identificación. El caso previamente reportado se presenta en un contexto de inmunosupresión lo que le otorga una mayor riesgo de infección con PVH tal como está demostrado en pacientes con HIV²⁶.

Un reducido número de casos evaluados podría explicar los resultados del estudio. Sin embargo estudios prospectivos que involucren más pacientes serán necesarios para establecer la relación entre PVH y CEE en el Perú.

CONCLUSIÓN

Aunque en la actualidad se tiende a relacionar los VPH a cáncer escamoso de esófago, en nuestra muestra del 2003 al 2006 no encontramos ningún caso positivo. Sin embargo hay que tener en cuenta que este es una comunicación corta y que el estudio continua con una población mayor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Poljak M, Cerar A, Seme K. Human papillomavirus infection in esophageal carcinomas: a study of 121 lesions using multiple broad-spectrum polymerase chain reactions and literature review. *Hum Pathol* 1998; 29: 266-271.
2. Layke JC, Lopez PP. Esophageal cancer: a review and update. *Am Fam Physician* 2006;73(1). *Cancer* 1996; 78: 704-710.
3. Suzuk L, Noffsinger AE, Hui YZ, Fenoglio-Preiser CM. Detection of human papillomavirus in esophageal squamous cell carcinoma
4. Syrjanen KJ. Histological changes identical to those of condylomatous lesions found in esophageal squamous cell carcinomas. *Arch Geschwulstforsch* 1982; 52: 283-292
5. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol* 1998; 153: 1741-1748
6. Penn I. Occurrence of cancers in immunosuppressed organ transplant recipients. *Clin Transplant* 1998;1:147-58.
7. Penn I. Posttransplant malignancies. *Transplant Proc* 1999;31:1260-2.
8. Hibberd AD, Trevillian PR, Wlodarczyk JH, et al. Cancer risk associated with ATG/OKT3 in renal transplantation. *Transplant Proc* 1999;31:1271-2.
9. Pukkala E, Schiller JT, Youngman L, et al.: Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2001, 344(15):1125-1131.
10. Sashiyama H, Shino Y, Kawamata Y, Tomita Y, Ogawa N, Shimada H, Kobayashi S, Asano T, Ochiai T, Shirasawa H. Immortalization of human esophageal keratinocytes by E6 and E7 of human papillomavirus type 16. *Int J Oncol* 2001; 19: 97-103.
11. Ralhan R, Mathew R, Arora S, Bahl R, Shukla NK, Mathur M. Frequent alterations in the expression of tumor suppressor genes p16INK4A and pRb in esophageal squamous cell carcinoma in the Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126: 655-660.
12. Fiedler M, Muller-Holzner E, Viertler HP, Widschwendter A, Laich A, Pfister G, Spoden GA, Jansen-Durr P, Zwerschke W. High level HPV-16 E7 oncoprotein expression correlates with reduced pRb-levels in cervical biopsies. *FASEB J* 2004; 18:1120-1122.
13. Sashiyama H, Shino Y, Kawamata Y, Tomita Y, Ogawa N, Shimada H, Kobayashi S, Asano T, Ochiai T, Shirasawa H. Immortalization of human esophageal keratinocytes by E6 and E7 of human papillomavirus type 16. *Int J Oncol* 2001; 19: 97-103.
14. Ralhan R, Mathew R, Arora S, Bahl R, Shukla NK, Mathur M. Frequent alterations in the expression of tumor suppressor genes p16INK4A and pRb in esophageal squamous cell carcinoma in the Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126: 655-660.

15. Lechner MS, Mack DH, Finicle AB, Crook T, Vousden KH, Laimins LA. Human papillomavirus E6 proteins bind p53 in vivo and abrogate p53-mediated repression of transcription. *EMBO J* 1992; 11: 3045-3052.
16. Chang F, Syrjanen S, Shen Q, Cintorino M, Santopietro R, Tosi P, Syrjanen K. 2000. Human papillomavirus involvement in esophageal carcinogenesis in the high incidence area of China: a study of 700 cases by screening and type-specific in situ hybridization. *Scand J Gastroenterol* 35:123-130.
17. Zhong-Ying S, Sheng-Ping H, Li-Chun L, Chun-Zhi T, Zhong-Sheng K, et al. Detection of Human Papillomavirus in Esophageal Carcinoma. *Journal of Medical Virology*, 2002 68:412-416.
18. Castillo A, Aguayo F, Koriyama Ch, Torres M, et al. Human papillomavirus in esophageal squamous cell carcinoma in Colombia and Chile. *World J Gastroenterol* 2006 October 14;12(38): 6188-6192.
19. Hippelainen M, Eskelinen M, Lipponen P, Chang F, Syrjanen K: Mitotic activity index, volume corrected mitotic index and human papilloma-virus suggestive morphology are not prognostic factors in carcinoma of the oesophagus. *Anticancer Res* 1993, 13(3):677-681.
20. Furihata M, Ohtsuki Y, Ogoshi S, Takahashi A, Tamiya T, Ogata T: Prognostic significance of human papillomavirus genomes (type-16, -18) and aberrant expression of p53 protein in human esophageal cancer. *Int J Cancer* 1993, 54(2):226-230.
21. Dreilich M, Bergqvist M, Moberg M, Brattström D, et al. High-risk human papilloma virus (HPV) and survival in patients with esophageal carcinoma: a pilot study. *BMC Cancer* 2006, 6:94
22. Matsha T, Donniger H, Erasmus RT, Hendricks D, Stepien A, Parker MI. Expression of p53 and its homolog, p73, in HPV DNA positive oesophageal squamous cell carcinomas. *Virology*. 2007 Dec 5;369(1):182-90.
23. Fakhry C, Westra W, Li S, Cmelak A, Ridge J, et al. Human papillomavirus (HPV) infection as a prognostic factor in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma treated in a prospective phase II clinical trial. *Abstract - No. 6035* 2008 ASCO Annual Meeting.
24. Hsu HY, Cheng YW, Chan IP, Ho HC, Chen CY, Hsu CP, Lin MH, Chou MC. Association between expression of human papillomavirus 16/18 E6 oncoprotein and survival in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*. 2009 Jan;21(1):81-7.
25. Huamán M, Beltrán B, Osoreo F, Palomino A, et al. Cáncer de esófago y papilomavirus humano 16 en un paciente trasplantado renal del Hospital Edgardo Rebagliati Martins, Lima, Perú: primer reporte latinoamericano de un caso y revisión de la literatura. *Acta Med Per* 2008, 24(5): 224-228.
26. Roka S, Rasoul-Rockenschaub S, Roka J, Kirnbauer R, Muhlbacher F, Salat A: Prevalence of anal HPV infection in solid-organ transplant patients prior to immunosuppression. *Transpl Int* 2004, 17(7):366-369.

CORRESPONDENCIA

Brady Beltrán Gárate

bgbrady@hotmail.com